biometra
a part of Analytik Jena

Fastblot

Semi-Dry
Blotter

Bedienungsanleitung

Modell	Best. Nr.
B33	014-100
B34	014-200
B43	015-100
B44	015-200
B64	015-600

!! Achtung !!
Bitte lessen Sie die Bedienungsanleitung sorgfältig, bevor Sie mit dem Gerät arbeiten!

Biometra GmbH

Rudolf-Wissell-Str. 30
D-37079 Goettingen
Tel: +49 (0)5 51 50 68 6-0
Fax: +49 (0)5 51 50 68 6-66
e-mail: Info@biometra.com
internet: http://www.biometra.de

Service Department
Rudolf-Wissell-Str. 14-16
D-37079 Goettingen
Tel.: +49 (0)5 51 50 68 6-10 or -12
Fax.: +49 (0)5 51 50 68 6-11
e-mail: Service@biometra.com

Diese Bedienungsanleitung beschreibt den Stand der Dinge zum Zeitpunkt der Drucklegung. Es muss nicht notwendigerweise mit zukünftigen Versionen übereinstimmen.

Irrtümer und Änderungen vorbehalten!

Inhaltsverzeichnis:

1. Einleitung 3
1.1 Bestimmungsgemäße Verwendung 3
1.2 Technische Spezifikationen 4
1.3 Rechtliche Hinweise 5
2 Sicherheitshinweise 6
2.1 Bedeutung der verwendeten Symbole 6
2.2 Generelle Sicherheitshinweise 6
3 Installation 9
3.1 Lieferumfang 9
3.2 Auspacken und Prüfen 9
3.3 Installation des Gerätes 9
3.4 Stromversorgung 9
4 Bedienelemente 10
5 Betrieb 11
5.1 Protein Blotting 11
5.1.1 Vorbereitung des Blotting Sandwiches 11
5.2 DNA Blotting (Agarose Gele) 15
6 Allgemeine Blotting Infromationen 16
6.1 Transfereffizienz 16
6.2 Transferbedingungen 16
6.3 Kühlung 16
7 Lösungen 17
7.1 Kontinuierliche Transfer Puffersysteme 17
7.2 Diskontinuierliche Transfer Puffersysteme 18
7.3 Hinweise zum Einsatz von Methanol und SDS: 18
7.4 Färbelösung 19
7.5 Entfärbelösungen (Acrylamidgele) 19
8 Produkt Informationen 20
9 Referenzen 21

10 Instandhaltung und Reparatur 22
10.1 Reinigung und Instandhaltung 22
10.2 Service 22
10.3 Ersatzteile 22
11 Service 23
11.1 Rücksendungsinstruktionen 23
12 Dekontaminationsbescheinigung 24
13 Hinweise zur Entsorgung von Elektroaltgeräten 26
14 EC – Declaration of Conformity / EU - Konformitätserklärung 27
15 Garantie 28

1. Einleitung

1.1 Bestimmungsgemäße Verwendung

Das Elektroblotting ist eine wichtige Methode zum Transfer von Proteinen aus Polyacrylamidgelen auf Nitrocellulose oder andere Trägermembranen (1, 2, 3).

Die Methode des Semidry-Blottens zwischen zwei horizontalen Plattenelektroden erlaubt einen schnellen und homogenen Transfer von Proteinen (4). Der Aufbau des Semidry-Blots ermöglicht wahlweise die Verwendung diskontinuierlicher Puffersysteme (z.B. ein Kathodenpuffer und zwei verschiedene Anodenpuffer) zum schonenden Blotten von kleineren Proteinen oder zum gleichmäßigen Transfer unterschiedlichster Proteine.

Die ursprünglich verwendeten reinen Graphitelektroden zeigten sehr schnell erhebliche Korrosion. Um diese Korrosion zu vermeiden, werden für die Fastblot-Systeme B33, B34 und B64 modifizierte Elektrodenmaterialien auf Kohlenstoffbasis eingesetzt. Zusätzlich werden B43 und B44 mit porenfreien Metallelektroden für leichter Dekontamination angeboten. Bei diesen Elektroden besteht die Anode aus platinumhülltem Titan und die Kathode aus einem speziellen rostfreien Stahl.

Diese Materialien ermöglichen den Transfer bei höheren Stromstärken und erlauben das Blotten kleinerer Proteine in ca. 10 – 30 Minuten.
Längere Transferzeiten werden jedoch bei Proteinen > 100 kDa benötigt. Die beim Transfer dieser Proteine auftretende Erwärmung kann im Fastblot B33 und B43 durch die in das System integrierte Durchflußkühlung kompen-siert werden.

Darüber hinaus werden bei höheren Stromstärken Proteine mit höherem Molekulargewicht (> 100 kDa) schneller und quantitativer transferiert. Auch kleinere Proteine lassen sich unter diesen Bedingungen schneller aus dicken oder kleinporigen Gelen blotten.

Das Blotten von Nukleinsäuren ist grundsätzlich auch möglich. Es empfiehlt sich jedoch für Nukleinsäuren den Transfer mit der Vakuumtechnik vorzunehmen (z.B. Biometra Vacu-Blot System, Bestellnummer: 053-000).

B43/B44 B33/B34 B64

1.2 Technische Spezifikationen

Gehäuse	PMMA	
Anode	B33, B34, B64:	Spezial-Carbon
	B43, B44:	Platin umhülltes Titan
Kathode	B33, B34, B64:	Spezial-Carbon
	B43, B44:	rostfreier Spezialstahl
Kühloption	B33, B34:	Durchflußkühlung
Abmessungen (B x L x H)	B33, B43:	26 cm x 22 cm x 11 cm
	B34, B44:	24 cm x 22 cm x 11 cm
	B64:	34 cm x 44 cm x 14 cm
Gewicht	B33, B34:	~ 2 kg
	B43, B44:	~ 2,5 kk
	B64:	~ 6 kg
Maximale Gelgröße	B33, B34, B43, B44:	15,5 cm x 19,5 cm
	B64:	23 cm x 38 cm
Chemische Beständigkeit	Die Komponenten der Semidry-Blotter sind nicht beständig gegen >10 % Alkohol (z.B. Methanol, Ethanol) oder organische Lösungsmittel (z.B. Aceton, Chloroform, Toluol, Benzol). Die Verwendung von organischen Lösungsmitteln führt zum erlöschen der Garantieansprüche.	

Semidry-Blooter sind für die Anwendung in geschlossenen Laboratorien bei Umgebungstemperaturen von +5 °C bis +40 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 80 % (bei Temperaturen bis zu + 32 °C) linear abnehmend auf 50% (bei Temperaturen von +40 °C) bestimmt.

1.3 Rechtliche Hinweise

Copyright
Alle Rechte vorbehalten. Es ist nicht erlaubt die Bedienungsanleitung oder Teile von dieser in irgendeiner Form als Kopie, auf Mikrofilm oder mittels anderer geeigneter Methoden ojne die schriftliche Genehmigung von Biometra zu kopieren oder zu veröffentlichen.
Bei Firmennamen Biometra und allen anderen verbundenen Markennamen handelt es sich um geschützte Warenzeichen

Haftung
Biometra ist nicht verantwortlich für Schäden oder Verletzungen, die durch unsachgemäße Anwendung unter Missachtung der anweisungen in der Betriebsanleitung entstehen.

Bedeutung der Bedienungsanleitung
Biometra empfiehlt dringend vor dem Gebrauch des Gerätes die Bedienungsanleitung sorgfältig zu lesen.
Die Bedienungsanleitung ist Teil des Produkts und sollte über die gesamte Lebensdauer des Instruments aufbewahrt und allen Nutzern zugänglich sein. Pflegen Sie alle Ergänzungen und Aktualisierungen in die Bedienungsanleitung ein.

2 Sicherheitshinweise

2.1 Bedeutung der verwendeten Symbole

Symbol	Definition
	Achtung! Anweisungen in der Bedienungsanleitung beachten!
	Gefahr! Hochspannung!
	Zerbrechlich!
	Mit Gleichstrom zu verwenden.

2.2 Generelle Sicherheitshinweise

Empfindliches Gerät! Vorsichtig behandeln!

Verwenden Sie das Gerät nicht, wenn Puffer aus dem Zwischenraum zwischen Korpus und Deckel, oder Wasser aus der Kühlsystem austritt, wenn Beschädigungen am Fastblot sichtbar sind oder wenn die Kabel abgenutzt oder beschädigt sind.

Stellen Sie sich, dass der An/Aus-Schalter des verwendeten externen Stromversorgers jeder Zeit frei zugänglich ist-

Achtung! Hochspannung!
Die Stromversorgung vom externen Stromversorger zum Gerät erfolgt über den Sicherheitsdeckel, welcher eine Sicherheitssperre zum Schutz des Anwenders darstellt. Die Stromversorgung wird unterbrochen wenn der Deckel geöffnet wird.

Versuchen Sie niemals diese Sicherheitsvorrichtung zu umgehen und schalten Sie grundsätzlich den Stromversorger aus bevor sie den Deckel öffnen oder eine Tätigkeit am Gerät durchführen!

Die Elektrizität für das Gerät wird von einem externen Gleichspannungs-Stromversorger geliefert. Die Ausgänge dieses Stromversorgers müssen den gültigen Sicherheitsvorschriften entsprechen.
(Alle Biometra Stromversorger entsprechen diesen Anforderungen!)

Stellen Sie niemals ein Instrument auf einen Stromversorger.

Verändern Sie nicht die Polarität der Elektroden: Die Anode (+) befindet sich auf dem Korpus des Fastblots und die Kathode (-) im Deckel! Eine Änderung der Polarität führt zu Korrosionserscheinungen and der Kathode oderSchäden an den Spezial-Carbon Elektroden.

Wenn Sie die Kühloption verwenden, verwechseln Sie nicht die Zu- und Abflußverbindungen für das Kühlwasser: Die Kühlwasserverbindung mit dem schmaleren Durchmesser ist der Zufluß, die Verbindung mit dem breiteren Durchmesser der Abfluß.

Die beste Kühlung wird bei Verwendung eines Thermostaten mit einer Temperatur von 5°C erreicht.
(Achtung: Reduzieren Sie die Flußrate auf maximal 1 l/min und verwenden Sie weder organische Lösungsmittel noch Alkohol!)

Betriebsbedingungen:

Parameter	**B33**	**B34**	**B43**	**B44**	**B64**
Max. Spannung	50 V				
Max. Stromstärke / cm^2 gel	5 mA				3,5 mA
Max. Leistung	8 W				10 W
Max. Temperatur	50 °C				
pH Bereich (Elektroden)	pH 3 - 10				pH 3 - 9
Max. Flußrate der Kühlflüssigkeit (L / min) drucklos	0,5 - 1	n. A.	0,5 - 1	n. A.	n. A.

Lange Transferzeiten werden nicht empfohlen.
Lassen Sie das Gerät nicht unbeaufsichtigt. Joul'sche Wärme kann schnell während des Transferprozesses generiert werden.
Transferzeiten von länger als 2 Stunden können die Apparatur beschädigen.

Justieren Sie nicht den pH-Wert von Transfer Puffern, wenn dieses nicht ausdrücklich in der Anleitung spezifiziert ist. Ansonsten kann es zu einer Reduzierung der Leitfähigkeit kommen, die in einer Erhöhung der Spannung resultiert.

Verwenden Sie keinen Alkohol (z.B. Methanol, Ethanol) oder organische Lösungsmittel zum Kühlen oder Reinigen des Gerätes.

Das Gerät entspricht den EN 61616-1 Sicherheitsstandards

Zertifizierte Geräte sind sicher in der Handhabung wenn sie entsprechend der Bedienungsanleitung genutzt werden.

Das Gerät sollte niemals verändert werden. Änderungen führen zu einem Verlust der Garantie, Ungültigkeit der EN 61010-1 Zertifizierung und bergen potentiell Sicherheitsgefahren.

3 Installation

3.1 Lieferumfang

Der **Fastblot** wird ausgeliefert mit:
- Korpus mit Elektrode (Anode) – B33, B43 enthalten Durchflußkühlung
- Deckel mit Elektrode (Kathode)
- Kabel (dauerhaft verbunden mit dem Deckel) mit Sicherheitsstecker
- Garantiekarte
- Handbuch

3.2 Auspacken und Prüfen

Packen Sie das Gerät aus und untersuchen Sie es vorsichtig. Finden Sie dabei Beschädigungen, so verwenden Sie das Gerät nicht und informieren Sie BIOMETRA. Heben Sie in diesem Fall das Verpackungsmaterial auf.

!! Achtung !!

Bitte füllen Sie die Garantiekarte aus und schicken diese zurück. Dies ist wichtig für Sie, um den vollen Garantieanspruch zu erhalten!

3.3 Installation des Gerätes

Stellen Sie das Gerät in der Nähe des Stromversorger auf, der für die Versuche verwendet werden soll. Achten Sie darauf, daß das Gerät an einem sicheren und trockenen Platz steht und einen ausreichenden Sicherheitsabstand zum Rand der Arbeitsplattform hat.

3.4 Stromversorgung

Dieses Gerät wurde für die Verwendung mit Wechselstrom entwickelt.

Achtung: Dieses Gerät darf nicht geerdet werden.

4 Bedienelemente

5 Betrieb

5.1 Protein Blotting

Um die optimalen Transferbedingungen zu ermitteln, sollte jeweils eine Zeitreihe mit Elektrotransfers durchgeführt werden. Da viele Faktoren den Transfer beeinflussen (z.B. Molekulargewicht, IP, Porengröße des Gels) kann es sein, dass die zunächst geplante Transferzeit verkürzt werden kann.

5.1.1 Vorbereitung des Blotting Sandwiches

Schritt 1:
Entfernen Sie sofort nach Beendigung der Elektrophorese die Glasplatten von dem Gel und schneiden Sie den Teil des Gels aus, den Sie blotten möchten.

Achtung: Tragen Sie Handschuhe!

Schritt 2:
Schneiden Sie das Blottingpapier auf die Größe des Gels zu. Tränken Sie 5 Lagen 0,34 mm dickes Blottingpapier (Whatman 3MM Chr) oder 3 Lagen 0,92 mm dickes Blottingpapier (Whatman 17Chr) oder 2 Lagen 1,2 mm dickes Blottingpapier (Whatman GB005) mit Transferpuffer. Legen Sie das getränkte Filterpapier auf die Anode (+). Die Anode ist die Elektrode am Gerätekorpus.

Schritt 3:
Schneiden Sie die Membran (Standardmembran = Nitrocellulose) vorsichtig auf Gelgröße zurecht. Tränken Sie die Membran ebenfalls mit Puffer (5 min.) und legen Sie sie auf die in Schritt 2 vorbereiteten Filterpapiere. Bei Verwendung von PVDF Membranen muß diese zunächst in Methanol inkubiert werden (1 – 2 sec.), anschließend 5 min. in dest. Wasser und danach in Transferpuffer.

Achtung: Vermeiden Sie den Einschluß von Luftblasen (weiße Flecken auf der Membran) und berühren Sie die Membran nur mit Handschuhen!

Schritt 4:
Äquilibrieren Sie das Gel für 5 min. in Transferpuffer. (Bei Verwendung diskontinuierlicher Puffersysteme sollte das Gel in Kathodenpuffer äquilibriert werden!)

Achtung: Die Zeiten für die Äquilibrierung des Gels in Transferpuffer sollten konstant gehalten werden, da kürzere oder längerer Inkubationszeiten die Transfereffizienz beeinflussen können.

Schritt 5:
Legen Sie das SDS-Polyacrylamidgel auf die Membran.

Achtung: Vermeiden Sie Luftblasen !

Schritt 6:
Legen Sie nun 5 Lagen 0,34 mm dickes Blottingpapier (Whatman 3 MM Chr) oder 3 Lagen 0,92 mm dickes Blottingpapier (Whatman 17Chr) oder 2 Lagen 1,2 mm dickes Blottingpapier (Whatman GB005) auf das Polyacrylamidgel. Auch in diesem Fall müssen die Filterpapiere vor Verwendung in Transferpuffer getränkt werden.

Verwenden Sie KEINE basischen Puffer mit pH < 3 und keine alkalischen Puffer mit pH > 9 (B64) bzw. pH > 10!

Schritt 7:
Entfernen Sie eventuell vorhandene Luftblasen durch Ausrollen mit einem Reagenzglas oder einer Pipette.

Schritt 8:
Verbinden Sie den Deckel mit dem Korpus des Fastblots. Beachten Sie dabei, daß der Deckel über die gesamte Fläche genau parallel zum Korpus aufliegt. Legen Sie bei der Verwendung dickerer Gele ein Gewicht von 1 – 2 kg auf den Deckel (z. B. eine Schale mit kaltem Wasser).

Schritt 9:
Nach den Arbeitsschritten 2 bis 7 sollte das zum Blotten vorbereitete „Sandwich“ die in Abb.2 dargestellte Anordnung bei Verwendung von kontinuierlichen Puffersystemen bzw. die in Abb. 3 dargestellt Anordnung bei Verwendung von diskontinuierlichen Puffersystemen haben:

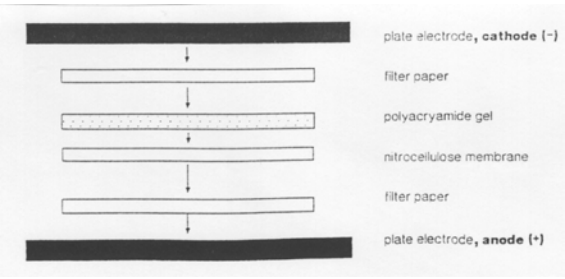


Abb.2:
Anordnung von Filterpapier (Blottingpapier), Gel und Blottingmembran zwischen den Elektroden-platten bei Verwendung von **kontinuierlichen Puffersystemen**. Blottingpapier und Blottingmembran haben die Größe des Gels.

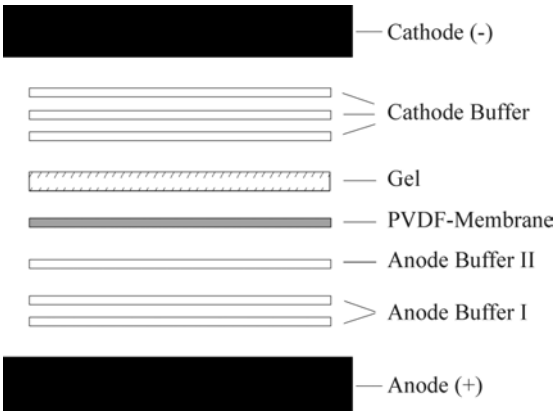


Abb. 3:
Aufbau eines typischen Blotting-Sandwiches bei Verwendung von **diskontinuierlichen Puffersystemen.**

Schritt 10:
Schalten Sie Ihr Spannungsgerät, z. B. das Biometra Standard Power Pack P25 oder P25T (Bestellnummer 040-800 bzw. 040-850) oder eines der Hochspannungs-Power Packs von Biometra auf eine konstante Stromstärke von

maximal 3,5 mA/cm^2 (B64) bzw.
maximal 5 mA/cm^2 (B33, B34, B43, B44)

Gelfläche ein.

Achtung: Die maximale Leistung für die Modelle B33/B34/B43/B44 beträgt 8 Watt.

Die beiden Elektroden bestehen aus unterschiedlichen Materialien. Ändern Sie die Polarität der Elektroden nicht: Die Anode (+) befindet sich am Korpus des Fastblots, die Kathode (-) im Deckel des Gerätes.

Schritt 11:
Erwärmt sich der Deckel während des Blotvorgangs, so reduzieren Sie die Stromstärke oder legen Sie ein vorgekühltes Kühlkissen auf.

Die maximale Betriebstemperatur darf + 50°C nicht überschreiten!

Schritt 12:
Bei der Verwendung der Durchflußkühlung ist das Folgende zu beachten:

Der Wasserzufluß der Kühlung ist an seinem – im Verhältnis zum Wasserabfluß - schmaleren Durchmesser zu erkennen.
Verwechseln Sie niemals den Zu- und den Abfluß der Kühlung!

Die Flußgeschwindigkeit des Kühlwassers sollte maximal 0,5 – 1 l/min (drucklos !) betragen.

Die beste Kühlung wird bei Verwendung eines Thermostaten (Bestell-nummer 043-300 oder 043-390) mit einer Temperatur von 5°C erreicht. (Vorsicht: Reduzieren Sie die Flußrate auf maximal 1 l/min (drucklos) und verwenden Sie weder organische Lösungsmittel noch Alkohol!)

Schritt 13:
Stellen Sie nach Beendigung des Transfers zuerst das Spannungsgerät aus, und ziehen Sie die Stecker aus dem Spannungsgerät. Nachdem Sie gegebenenfalls die Kühlwasserzufuhr abgestellt haben, nehmen Sie den Deckel des Fastblots ab.

Gefahr! Hochspannung! Ziehen Sie die Verbindungskabel aus der Stromversorgung, bevor Sie den Deckel öffnen. Versuchen Sie niemals, die Kabel vom Deckel zu entfernen. Öffnen Sie das System nicht während des Transfervorgangs!

Schritt 14:
Entfernen Sie das „Blot-Sandwich“ vorsichtig. Die Membran kann nun für Anfärbungen oder Immunoassays verwendet werden.

Berühren Sie die Membran niemals mit den Fingern (ohne Handschuhe)!

Schritt 15:
Reinigen Sie die Elektrodenplatten nach jedem Blotvorgang mit destilliertem Wasser. Verwenden Sie niemals organische Lösungsmittel. Die Elektroden können mit Hilfe eines Papiertuches getrocknet werden.

5.2 DNA Blotting (Agarose Gele)

Die Fastblot Apparaturen können ebenfalls für den Elektrotransfer von Nukleinsäuren eingesetzt werden. Allerdings empfiehlt sich häufig für den Transfer von Nukleinsäuren der Einsatz der Vakuumblotting-Technik (DNA / RNA) bzw. der Kapillarblotting-Technik (RNA).

Verfahren:

Zur Steigerung der Blot-Effizienz sollte die DNA vor dem Transfer vorbehandelt werden:

Depurinierung	0.25 M HCl	7 min
Denaturierung	0.5 M NaOH 1.5 M NaCl	15 min
Neutralisierung	3.0 M NaCl 0.5 M Tris, pH 7,4	15 min

Das Blotting Sandwich wird entsprechend der Angaben in Kapitel 6 “Handhabung” aufgebaut. Als Transferpuffer wird 1 x TAE oder 1 x TBE empfohlen. Oberhalb und unterhalb des Blot-Sandwiches werden 10 Blatt Whatmann 3MM (getränkt mit Transferpuffer) verwendet. Für den Transfer ist es wichtig, daß die Membran (z.B. Nylon-Membran) auf der Anoden-Seite des Gels aufgelegt wird. Der Transfer sollte nicht länger als ca. 30 min. dauern.

Achtung: Keine Nitrocellulose Membranen verwenden, da diese in basischen Lösungen nicht stabil sind!

6 Allgemeine Blotting Infromationen

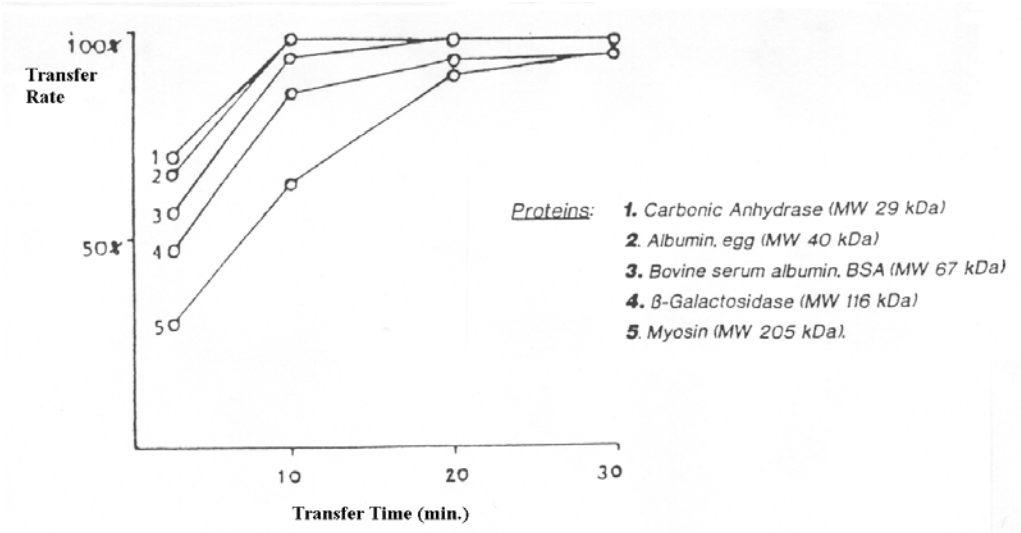
6.1 Transfereffizienz

Die Effizienz des Transfers kann durch die Verwendung von Standardproteinen, an welche kovalent Coomassie Brilliant Blau gebunden ist, überprüft werden.
Nach dem Blotvorgang kann das Gel mit Coomassie Brillant Blau gefärbt werden, um die Vollständigkeit des Transfers zu kontrollieren.

6.2 Transferbedingungen

Die Übertragungsbedingungen (Zeit, Stromstärke) sollten für jedes Protein optimiert werden. In Abb. 1 sind die Übertragungszeiten und –raten einiger Proteine zusammengefaßt. Mit Hilfe dieser Abbildung sind grobe Abschätzungen der Transferzeiten möglich.

- Die Transferzeit wird auch von der Geldicke und der Acrylamidkonzentration beeinflußt.
- Ist die gewählte Transferzeit zu lang, ist es möglich, daß das Protein die Membran passiert und verloren geht. Dies kann mit Hilfe einer zweiten Membran unter der eigentlichen Blottingmembran überprüft werden, welche ebenfalls nach dem Transfer auf das Vorhandensein von Proteinen getestet wird.



Elektrophoretischer Transfer von Proteinen
SDS-PAGE, Acrylamidkonzentration: 10%; Nitrocellulose-Blottingmembran, Porengröße 0.45 μm; Stromstärke: 5 mA/cm^2 Gelfläche; Geldicke: 1.0 mm; Transferpuffer: Tris/Glycin/SDS

6.3 Kühlung

Sollen Proteine mit einem hohen Molekulargewicht (> 100 kDa) übertragen werden, dauert der Blotvorgang bis zu 30 Minuten. In diesem Fall und beim Übertragen nativer Proteine/Enzyme wird empfohlen, das Kühlungssystem der Fastblots B33 und B43 zu verwenden.

7 Lösungen

7.1 Kontinuierliche Transfer Puffersysteme

Transferpuffer, pH 8,3

25 mM	Tris-Base
150 mM	Glycin
10 %	Methanol

Optional:
Verdünnen Sie den Elektrophorese-Laufpuffer mit destilliertem Wasser (einfaches oder doppeltes Volumen).

Laufpuffer (Laemmli-System):

25 mM	Tris-Base
192 mM	Glycin
0,1 %	SDS (Natriumdodecylsulfat)

Für das Blotten mit einem oder zwei Teilen dest. Wasser verdünnen und 10-20% Methanol hinzufügen.

Towbin Puffer:

50 mM	Tris
96 mM	Glycin
pH	7,8 – 8,4

Achtung: Maximale Stromstärke bei Verwendung des B64 = 3,5 mA / cm² Gelfläche

7.2 Diskontinuierliche Transfer Puffersysteme

Anoden Puffer I:
300 mM Tris/HCl, pH = 10,4
20 % (v/v) Methanol

Anoden Puffer II:
25 mM Tris/HCl, pH = 10,4
20 % (v/v) Methanol

Kathoden Puffer:
25 mM Tris/HCl, pH = 9,4
40 mM Capronsäure
20 % (v/v) Methanol
0,01 % SDS

Das diskontinuierliche Puffersystem (in Anlehnung an Kyhse-Andersen, 1984) ist geeignet für native PAGE, SDS-PAGE und IEF Gele.

- Durch die geringe Konzentration des SDS (0,01%) im Kathoden Puffer kommt es zu keiner Denaturierung der Proteine während der kurzen Kontaktphase.
- Proteine über 80 KD sollten vor dem Transfer für 5-10 min. im Kathoden Puffer äquilibriert werden.
- Urea-IEF Gele sollten ebenfalls vor dem Blotten in Kathoden Puffer äquilibriert werden (Urea ausspülen). Achtung: Nicht zu lange äquilibrieren, da die Proteine schnell aus dem Gel heraus diffundieren können!

alternativer Kathoden Puffer:
40 mM D, L-Norleucin
(Norleucin unter Erwärmung auflösen. Stammlösung können auf Grund der limitierten Löslichkeit nicht hergestellt werden!)
25 mM Tris/HCl, pH = 9,4
25 % (v/v) Methanol

Achtung: Maximale Stromstärke bei Verwendung des B64 = 2,5 mA / cm² Gelfläche

7.3 Hinweise zum Einsatz von Methanol und SDS:

Methanol: Verbessert die Bindung von Proteinen an Nitrocellulose
Hemmt das quellen des Gels
Kann die Löslichkeit von Proteinen herabsetzen, so daß sich die Proteine schlechter blotten lassen

SDS: Hemmt die Bindung von Proteinen an die Membran
Verleiht den Proteinen eine gleichmäßige Ladung
Kann die antigenen Eigenschaften eines Proteins verändern

7.4 Färbelösung

Färbelösung (1 l)

2,0 g	Coomassie Brilliant Blau R 250
0,5 g	Coomassie Brilliant Blau G250
425 ml	Ethanol
50 ml	Methanol
100 ml	Essigsäure
425 ml	bidest. Wasser

Über Nacht rühren; vor dem Benutzen filtrieren; in dunkler Flasche lagern!

7.5 Entfärbelösungen (Acrylamidgele)

Schnelles Entfärben in:

45 %	Ethanol
10 %	Essigsäure
45 %	bidest. Wasser

Langsames Entfärben in:

25 %	Isopropanol
10 %	Eisessig
65 %	bidest. Wasser

Letztes Entfärben in:

7 %	Essigsäure in bidest. Wasser

8 Produkt Informationen

014-100 **Fastblot B33**, Komplettsystem, Größe der Elektroden 16cm x 20 cm, mit Durchflußkühlung, inkl. Handbuch

014-200 **Fastblot B34**, Komplettsystem, Größe der Elektroden 16 cm x 20 cm, ohne Durchflußkühlung, inkl. Handbuch

015-100 **Fastblot B43**, Komplettsystem mit speziellen Metallelektroden, Größe der Elektroden 16 cm x 20 cm, mit Durchflußkühlung, inkl. Handbuch

015-200 **Fastblot B44**, Komplettsystem mit speziellen Metallelektroden, Größe der Elektroden 16 cm x 20 cm, ohne Durchflußkühlung, inkl. Handbuch

015-600 **Fastblot B64**, Komplettsystem, Größe der Elektroden 22,5 cm x38, 5 cm, mit passiver Kühlung, inkl. Handbuch

Blotting Papier:

10 426 981 Whatman GB005, 200 mm x 200 mm, 1,2 mm dick, 25 Blatt
10 426 994 Whatman GB005, 580 mm x 580 mm, 1,2 mm dick, 25 Blatt

3017915 Whatman 17 Chr, 460 mm x 570 mm, 0,92 mm dick, 100 Blatt
3030 931 Whatman 3MM, 580 mm x 680 mm, 0,34 mm dick, 100 Blatt

Nitrocellulose Blotting Membranen:

10 401 396 Whatman Protran-BA83, Porengröße 0,20 µm, 30 cm x 3 m Rolle

10 401 196 Whatman Protran-BA85, Porengröße 0,45 µm, 30 cm x 3 m Rolle
10 401 180 Whatman Protran-BA85, Porengröße 0,45 µm, 30 cm x 60 cm, 5 Stk/Pkg
10 402 580 Whatman Protran-BA85, Porengröße 0,45 µm, 33 cm x 56 cm, 5 Stk/Pkg

10 439 196 Whatman Protran-BA-S 85, Porengröße 0,45 µm, 30 cm x 3 m Rolle

9 Referenzen

1. Towbin, H., Staehlin, T. and Gordon, J. (1979); Proc. Nat. Acad. Sci. 76, 4350 - 4356
2. Bittner, M., Kupferer, P. and Morris, C.F. (1980); Anal. Biochem. 102, 459 - 571
3. Burnette, W.N. (1981); Anal. Biochem. 112, 195 - 203
4. Kyse-Andersen, J. (1984); J. Biochem. Biophys. Meth. 10, 203 - 209

10 Instandhaltung und Reparatur

10.1 Reinigung und Instandhaltung

Tauchen Sie das Gerät niemals in Wasser ein.

Seien Sie bei der Reinigung der Anodenplatte des B43 und B44 besonders vorsichtig um eine Beschädigung des Platins zu verhindern. Verwenden Sie keine Scheuermittel oder starke Detergenzien.

Die Kathodenplatte (rostfreier Spezialstahl) des B43, B44 kann mit leichten Scheuermitteln (z.B. Ceranfeld Reiniger) gereinigt werden.

Das komplette Gerät sollte in periodischen Abständen mit (warmen) Wasser gereinigt werden, um Salzreste zu entfernen.
Verwenden Sie niemals Alkohol >10% (z.B. Methanol, Ethanol) oder organischen Lösungsmittel (z.B. Aceton) zum Reinigen des Gehäuses oder der Elektroden.

Das System darf niemals autoklaviert oder in einer Mikrowelle benutzt werden.

10.2 Service

Ein regelmäßiger Service ist nicht notwendig. Dennoch sollten die Elektroden mit einem weichen Tuch (mit dest. Wasser angefeuchtet) nach jedem Transfer gereinigt werden.

Sollten die Elektroden nach häufigem Gebrauch zugesetzt sein, so dass der Transfer inhomogen oder vermindert ist, nehmen Sie bitte Kontakt mit der Serviceabteilung auf.

10.3 Ersatzteile

Bitte kontaktieren Sie die Serviceabteilung.

11 Service

Sollten Sie Probleme mit dem Gerät haben, setzen Sie sich bitte mit unserer Serviceabteilung bzw. dem für Sie zuständigen lokalen Biometra Händler in Verbindung:

Biometra GmbH
Serviceabteilung
Rudolf-Wissell-Str. 14 - 16
D-37079 Göttingen
Tel.: +49 – (0)5 51 / 50 68 6 – 10 oder - 12
Fax: +49 – (0)5 51 / 50 68 6 – 11
e-mail: Service@biometra.com

Falls Sie das Gerät an uns zurücksenden möchten, beachten Sie bitte unsere Rücksendungsinstruktionen:

11.1 Rücksendungsinstruktionen

- Senden Sie nur fehlerhafte Geräte zurück. Bitte wenden Sie sich bei technischen Problemen, die nicht eindeutig als Gerätefehler erkennbar sind, vor Einsendung an den technischen Service von **Biometra**.

- Kontaktieren Sie die Serviceabteilung um eine **RAN-Nummer** für die Rücksendung zu erhalten. Diese Nummer muß außen am Karton deutlich sichtbar angebracht werden. **Rücksendungen ohne RAN-Nummer können nicht angenommen werden.**

- **Wichtig:**
-
  Reinigen Sie alle Teile des Gerätes von Rückständen, sowie biologisch gefährlichen, chemischen und radioaktiven Verunreinigungen. Bei verunreinigten Geräten verweigert **Biometra** die Annahme des Gerätes! Für eventuelle Schäden oder Verlsute infolge mangelhafter Dekontamination des Gerätes **haftet der Absender** des Gerätes.

- Bitte **bestätigen** Sie bei jeder Einsendung **schriftlich**, daß das Gerät frei von biologisch gefährlichen und radioaktiven Kontaminationen ist. Nutzen Sie hierfür das Dekontaminationsbescheinigungs-Formular auf der folgenden Seite.

- Benutzen Sie für den Versand die Originalverpackung oder eine ähnlich robuste Verpackung.

- Kennzeichnen Sie die Verpackung äußerlich mit „CAUTION! SENSITIV ELECTRONIC INSTRUMENT!“ oder " VORSICHT! HOCHEMPFINDLICHE ELEKTROGERÄTE".

- Bitte legen Sie eine **präzise Fehlerbeschreibung** bei, die möglichst auch aufzeigt, bei welchen Prozeduren der Fehler auftritt bzw. entstanden ist.

- Bitte legen Sie eine Notiz bei, die folgendes enthält:
  a) Name und Adresse des Absenders
  b) Ansprechpartner und Telefonnummer für mögliche Rückfragen
  c) Präzise Beschreibung des Fehlers

12 Dekontaminationsbescheinigung

Um eine Gefährdung von Mitarbeitern während der Reparatur- oder Wartungsarbeiten ausschließen zu können, bitten wir Sie folgendes auszufüllen und zu bestätigen. Insbesondere verweisen wir auf § 71 Strahlenschutzverordnung, §17 Gefahrstoffverordnung und § 19 Chemikaliengesetz.

FIRMA / INSTITUT _____

ADRESSE _____

TEL Nr. _____ FAX Nr. _____

E-MAIL _____

PRODUKT	Modell	Serien-Nr.
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____
	_____	_____

Falls als Leih-/Probestellgerät: Beginn (Datum): _____ Ende (Datum): _____

Gesundheitsgefährdende Substanzen („Gefahrstoffe“), die mit diesem Produkt benutzt wurden:

_____

_____

_____

Das Produkt wurde gereinigt und ggf. dekontaminiert

(bei Verwendung radioaktiver Substanzen ein Wischtest-Protokoll beifügen!)

Art der Reinigung/ Dekontamination:

_____

_____

_____

Mit der Unterschrift wird bestätigt, daß das Produkt frei von Kontaminationen ist. Falls die Dekontamination unzureichend durchgeführt wurde, wird mit der Unterschrift akzeptiert, daß die damit verbundenen Folgekosten (z.B. Dekontamination durch eine Fachfirma, bzw. Entsorgung des Produktes als radioaktiver Abfall durch eine Fachfirma) zu Lasten des Verursachers gehen.

Name: _____ Stellung in Fa./Institut:_____

(Leiter des Institutes/ Abt./ Firma)

Unterschrift: _____ Datum: _____

Bitte senden Sie dieses Formular zusammen mit dem Produkt an Biometra Göttingen oder an Ihren Biometra-Außendienstmitarbeiter.

Bitte bringen Sie dieses Formular ausgefüllt an der Außenseite der Verpackung an. Produkte ohne dieses Formular werden kostenpflichtig an den Absender zurückgeschickt.

Allgemeine Hinweise zur Dekontamination:

Bitte wenden Sie sich an Ihren Sicherheitsbeauftragen oder Sicherheitsingenieur.

Bei Verwendung radioaktiver Substanzen:
Bitte wenden Sie sich an Ihren Strahlenschutzbeauftragten.

Bei Verwendung gentechnisch veränderter Organismen oder Teilen davon:
Bitte wenden Sie sich an Ihren Gentechnikbeauftragten.

13 Hinweise zur Entsorgung von Elektroaltgeräten

Das Symbol der durchgestrichenen Abfalltonne bedeutet für unsere Kunden in Deutschland, dass dieses Produkt von der Firma Biometra kostenlos zur Entsorgung zurückgenommen wird.

Zu diesem Zweck kontaktieren Sie bitte unsere Service-Abteilung!
Außerhalb Deutschlands wenden Sie sich bitte an den für Sie zuständigen Händler.

Dieses Symbol gilt nur in Staaten des EWR*.
*EWR = Europäischer Wirtschaftsraum, umfasst die EU-Mitgliedsstaaten sowie Norwegen, Island und Liechtenstein.

14 EC – Declaration of Conformity / EU - Konformitätserklärung

Goettingen, July 2009

im Sinne der EG-Richtlinie für die elektromagnetische Verträglichkeit 2004/108/EG
following the EC directive about the electromagnetic compatibility 2004/108/EC

Hiermit erklären wir, dass folgende **Blotting Systeme**
*Herewith we declare that the following **Blotting Systems***

Typ / *type*:	Fastblot B33, Fastblot B34, Fastblot B43, Fastblot B44, Fastblot B64
Best.-Nr. / *Order No.*	014-100, 014-200, 015-100, 015-200, 015-600

den grundlegenden Anforderungen der
corresponds to the basic requirements of

EG-Niederspannungsrichtlinie 2006/95/EG entsprechen.
EC low voltage directive 2006/95/EC.

Juergen Otte PhD
Quality Manager

15 Garantie

Dieses Biometra Produkt wurde sorgfältig hergestellt und die Qualität vor der Auslieferung gründlichst kontrolliert. Biometra garantiert, daß dieses Produkt den im Handbuch angegebenen Spezifikationen entspricht. Biometra gewährt eine Garantie von 12 Monaten auf fehlerhafte Teile unter folgenden Bedingungen:

Die Garantie ist gültig für **24 Monate** ab dem Tag der Auslieferung an den Besteller durch Biometra oder einen autorisierten Händler. Die Garantie kann ohne schriftliches Einverständnis von Biometra nicht auf Dritte übertragen werden.

Die Gewährleistung ist beschränkt auf das Produkt und gegebenenfalls mitgeliefertes Originalzubehör. Die Gewährleistung setzt voraus, daß das Gerät ausschließlich entsprechend der Anleitung betrieben wurde.

Innerhalb der Garantie repariert oder ersetzt Biometra alle zurückgesandten defekten Teile ohne Berechnung. Die Garantie gilt nicht für Schäden, die durch unsachgemäßen Gebrauch, Fahrlässigkeit oder normalen Verschleiß verursacht sind.

Biometra GmbH

Rudolf-Wissell-Str. 30
D-37079 Goettingen
Tel: +49 (0)5 51 50 68 6-0
Fax: +49 (0)5 51 50 68 6-66
e-mail: Info@biometra.com
internet: http://www.biometra.de

Service Department
Rudolf-Wissell-Str. 14-16
D-37079 Goettingen
Tel.: +49 (0)5 51 50 68 6-10 or -12
Fax.: +49 (0)5 51 50 68 8-11
e-mail: Service@biometra.com